

ATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

Date of mailing (day/month/year)
27 April 2001 (27.04.01)

To:
Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE
in its capacity as elected Office

International application No.
PCT/JP00/05642

Applicant's or agent's file reference
ORTH-001-PCT

International filing date (day/month/year)
23 August 2000 (23.08.00)

Priority date (day/month/year)
24 August 1999 (24.08.99)

Applicant

KAMATA, Naoyuki

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

16 February 2001 (16.02.01)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Antonia Muller

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05642

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61K35/20, A61P29/00, A23L1/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A61K35/20, A61K39/395, A23L1/30

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1926-1992 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-1996
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-1992 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-1999

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US, 5352462, A (Stolle Research and Development Corp.), 04 January, 1994 (04.01.94), whole document & JP, 2-503802, A & CA, 1339724, A & EP, 336694, A2 & WO, 91/6321, A1	1-4
Y	EP, 593440, A1 (Stolle Research and Development Corp.), 27 April, 1994 (27.04.94), whole document & WO, 92/4035, A1 & JP, 8-502718, A & US, 6054124, A	1-4
Y	JP, 4-352729, A2 (Stolle Research and Development Corp.), 07 December, 1992 (07.12.92), Par. No. [0024]; Example 1 & DE, 3504221, A1 & CA, 1276883, A2 & US, 5215746, A & WO, 94/27623, A1 & EP, 707485, A1	1-4
Y	JP, 4-283519, A (EISAI CO., LTD.), 08 October, 1992 (08.10.92),	1-4

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

- * Special categories of cited documents:
- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
02 November, 2000 (02.11.00)

Date of mailing of the international search report
14 November, 2000 (14.11.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

第I欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
2. 請求の範囲 1-4 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
これらの請求の範囲には「抗炎症因子含有免疫性物質」なる用語が記載されているが、それらの物質については、出願時の技術常識を勘案しても、明細書の第2ページ第7行目～第17行目に記載されているもの以外については、その示す具体的なものの範囲を特定することができないため、有意義な国際調査を行うことができない。
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年3月1日 (01.03.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/13928 A1

(51) 国際特許分類: A61K 35/20, A61P 29/00, A23L 1/30

[JP/JP]; 〒813-0012 福岡県福岡市東区香椎駅東3-25-52
Fukuoka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/05642

(72) 発明者; および

(22) 国際出願日: 2000年8月23日 (23.08.2000)

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 鎌田直幸 (KAMATA, Naoyuki) [JP/JP]; 〒213-0011 神奈川県川崎市
高津区久本2-7-3 Kanagawa (JP).

(25) 国際出願の言語: 日本語

(74) 代理人: 名越秀夫, 外 (NAKOSHI, Hideo et al.); 〒
150-0001 東京都渋谷区神宮前3丁目7-5 青山MSビル7
階 生田・名越法律特許事務所 Tokyo (JP).

(26) 国際公開の言語: 日本語

(81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL,
IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU,

(30) 優先権データ:
特願平11/236276 1999年8月24日 (24.08.1999) JP

[統葉有]

(54) Title: METHODS OF PASTEURIZING IMMUNE SUBSTANCE CONTAINING ANTIINFLAMMATORY FACTOR AND UTILIZATION THEREOF

(54) 発明の名称: 抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌方法及びその利用

(57) Abstract: Methods of pasteurizing/sterilizing immune substances containing antiinflammatory factors without damaging the antiinflammatory and immunopotentiating effects of the substances and utilization of the thus pasteurized/sterilized substances as health foods. Namely, methods of pasteurizing/sterilizing immune substances containing antiinflammatory factors which comprises heating a solution of the immune substances at a temperature of 55 to 70°C for 30 to 60 minutes, or filtering through a filter of 0.1 to 0.22 μ m in pore size. Foods and drinks such as ice cream, yogurt, liquid drink, jam, butter, cheese, cream, sherbet, mayonnaise, dressing and the like containing the immune substances containing antiinflammatory factors which have been pasteurized/sterilized by the above methods.

(57) 要約:

本発明は、抗炎症因子含有免疫性物質の抗炎症効果、免疫強化効果を損なうことなく、該物質の殺菌、滅菌を行う方法及びこのようにして殺菌、滅菌した該物質の健康食品としての利用を提供するものである。

即ち、抗炎症因子含有免疫性物質の溶液を55～70°Cの温度で30～60分間熱処理する、ポアサイズ0.1～0.22 μ mのフィルターで濾過する抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌方法である。また、これらの方で殺菌、滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質を添加した、アイスクリーム、ヨーグルト、液体ドリンク、ジャム、バター、チーズ、クリーム、氷菓、マヨネーズ、ドレッシング、その他の食品、飲料類である。

WO 01/13928 A1



LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL,
PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ,
UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,
LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI,
CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開 種:
— 國際調査報告

2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

明細書

抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌方法及びその利用

5 技術分野

本発明は、抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌に関するものである。特に、熱に弱い抗炎症因子含有免疫性物質をその効果を損なうことなく殺菌、滅菌する方法、及び、該方法により殺菌、滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質の利用に関するものである。

10

背景技術

炎症というのは、「組織に傷害や破壊があったときその傷害の原因と傷害組織双方を破壊、希薄化又は隔離するような局所的反応」であって「疼痛、発熱、発赤、腫脹、機能喪失」等の兆候を伴うものである（ローランド医学大事典）。炎症が起こったときには、一般的には抗炎症薬が投与される。抗炎症薬としては、抗ヒスタミン薬、ステロイド性及び非ステロイド性抗炎症薬、消炎酵素剤又は免疫抑制剤等が知られている。

しかしながら、これらの抗炎症薬は、それぞれに副作用や有害反応をもたらすといった問題がある。例えば、極めて一般的な抗炎症薬の一つであるサリチレート類は、特にアスピリンがよく知られているが、高投与量では中枢性呼吸麻痺及び循環虚脱を引き起こし、心窩部痛、恶心、嘔吐や消化管出血の原因になるとされる。

このような観点から、副作用、有害反応をもたらさない抗炎症剤の出現が望まれる。該副作用、有害反応のない抗炎症剤として牛乳から誘導される抗炎症薬組成物が提案され（特開昭57-

188523、特開昭59-161316）、更に、該抗炎症因子の分離とその抗炎症薬としての利用が提案されている（特表平2-503802、特表平8-502515、特表平8-502718、特表平10-509420）。

5 本発明は、上記牛乳から誘導される抗炎症因子を含む抗炎症因子含有免疫性物質を所謂健康食品として利用する技術を提供しようとするものである。ここで抗炎症因子含有免疫性物質というのは、微生物の弱毒性又は死菌、弱毒性ウイルス又は不活性化ウイルス、トキソイドを用いたアジュバント混合ワクチンで過免疫状態とした哺乳動物の雌の乳を原料として脱脂肪、脱カゼイン後に得られる乳清から分離した、乳性蛋白画分と分子量1万以下の低分子画分とを混合した免疫性物質のことである。乳性蛋白画分や分子量1万以下の低分子画分の各画分は、乳清から、例えば、クロマトグラフィーによる分離、ゲルろ過による分離、限外ろ過による分離で得ることができる。また、特表平2-503802、特表平8-502515、特表平8-502718、特表平10-509420等に記載されている方法を利用することもできる。

該抗炎症因子含有免疫性物質は、ヒト及び動物に対して、腸内環境改善効果並びにそれに伴う免疫強化効果及び抗炎症効果がある。該物質を溶液、粉末、顆粒又は飲食品に添加した形態等で、経口又は肛門から体内に注入することができる。具体的な効果としては、腸内環境改善、便秘改善、大腸ガンの予防と治療、日和見感染の予防と治療、腫瘍性疾患の予防と治療、免疫不全症の緩和、歯周病の予防と治療、歯肉炎の予防と治療、潰瘍性疾患の予防と治療、リウマチ症状の緩和、喘息の予防と治療等があげられる。

抗炎症因子含有免疫性物質は、上記の通り、抗炎症や免疫に対し

て副作用を伴うことなく効果を示す有用な物質である。この抗炎症効果は、例えば、エアポーチ法によって確認することができる。エアポーチ法の原理は、以下の通りである。抗炎症作用のある物質を経口投与し、マウス皮下にエアポーチ（空気の空洞）を作成し、カラギーナン（炎症源）を注入し、遊走されてくる白血球数を測定するものである。このとき、炎症が発症すると白血球が患部に遊走され、浸潤されるので、白血球数が多いほど炎症の度合いが強いということになる。逆に、抗炎症作用が強いほど、遊走・浸潤される白血球数は少ない。

一方、抗炎症因子含有免疫性物質は、特に、熱に弱い、即ち、高温度にさらすとその効果を失うという欠点を有している。一方、多くの飲食品の殺菌、滅菌には、加熱法が採用されている。従って、抗炎症因子含有免疫性物質を健康食品として利用しようとするとき、加熱によりその活性を失うという性質は、大きな障害になる。この観点から、抗炎症因子含有免疫性物質を健康食品として利用するに当たり、抗炎症因子含有免疫性物質の効果を損なうことなく殺菌、滅菌する方法が重要な意味を持つことになる。

本発明は、抗炎症因子含有免疫性物質の上記欠点を克服して、該物質の効果を損なうことなく、該物質を殺菌、滅菌する方法を提供しようとするものである。本発明は、更に、殺菌、滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質を健康食品として利用しようとするものである。

発明の開示

請求の範囲 1 の発明は、抗炎症因子含有免疫性物質の溶液を 25 55～70℃の温度で 30～60 分間熱処理することを特徴とする抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌方法である。請求の範囲 2 の

発明は、抗炎症因子含有免疫性物質の溶液をポアサイズ0.1～0.22μmのフィルターで濾過することを特徴とする抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌方法である。請求の範囲3の発明は、請求項1又は2の方法で殺菌した抗炎症因子含有免疫性物質を含有する物質である。請求の範囲4の発明は、請求の範囲1又は2の方法で殺菌した抗炎症因子含有免疫性物質を添加した、アイスクリーム、ヨーグルト、液体ドリンク、ジャム、バター、チーズ、クリーム、氷菓、マヨネーズ、ドレッシング、その他の食品、飲料類である。

抗炎症因子含有免疫性物質は比較的新しい物質であるので、該物質の性質、使用方法等に關し未だ充分明らかにされていない点が多い。抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌方法についても、どのような条件で処理すればよいか、分かっていない状況にある。本発明は、初めて、抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌条件を明らかにしたものである。

免疫グロブリンを含む乳の殺菌方法に関しては、例えば、特開平4-66050に62℃30分間、75℃で15秒間加熱処理する方法が記載されている。この殺菌方法は、あくまでも免疫グロブリンを含む乳に関するものであって、本願の抗炎症因子含有免疫性物質に関するものではない。従って、自ずと、抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌方法と免疫グロブリンを含む乳の殺菌方法とは基本的に異なるものである。

即ち、抗炎症因子含有免疫性物質は、脱脂肪、脱カゼイン後に得られる乳清から分離した、乳性蛋白画分と分子量1万以下の低分子画分とを混合した物質であって、乳に通常含有する、乳脂肪、乳糖、カゼイン等を含有しないものである。乳脂肪、乳糖、カゼイン等を

含有しないときに加熱時に受ける影響は、乳脂肪、乳糖、カゼイン等を含有する場合に比較し大きくなる。従って、乳糖、カゼイン等を含有しない場合、含有する場合の、個別の殺菌、滅菌方法が必要になることはいうまでもない。

5 また、本発明は、あくまでも抗炎症因子含有免疫性物質を医薬品として処方するものではなく、飲食品に適応して、所謂健康食品としての利用を目的とするものである。抗炎症因子含有免疫性物質を健康食品に加工適用するに際しては、その効果を大きく損なうことなく殺菌、滅菌する方法が重要なポイントの一つである。

10 抗炎症因子含有免疫性物質の効果を損なうことなく殺菌、滅菌する方法として、本発明者は、特定の範囲の温度で処理する殺菌、滅菌法及びポアサイズの小さいフィルターでろ過処理するろ過法が適していることを見出し、本発明を完成させたのである。また、これらの方法で殺菌、滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質を添加して得た飲食品を提供するものであり、該飲食品は抗炎症効果や免疫強化効果がある健康食品として有用なものである。

発明を実施するための最良の形態

本発明を、実施の形態に基づいて説明する。まず、抗炎症因子含有免疫性物質を水に溶解し水溶液を得る。水溶液の濃度は0.20 0.1～20重量%程度である。この水溶液を55～70℃の温度で30～60分間熱処理する。この処理により、抗炎症因子含有免疫性物質の抗炎症効果、免疫強化効果を損なうことなく殺菌、滅菌することができる。温度と時間は相互の関係で決められる要素があるものの、温度自身が重要である。本発明者は、処理温度が70℃を越えると、該物質の抗炎症効果が極端に低下することを認めた。ま

た、処理温度が低すぎると、殺菌、滅菌効果が期待できなくなるので、少なくとも 55℃ 以上の温度で処理する必要がある。抗炎症因子含有免疫性物質を殺菌、滅菌するには、55～70℃ の温度範囲で処理する必要がある。

5 このように殺菌、滅菌した、抗炎症因子含有免疫性物質の水溶液は、このままの状態、又は、凍結乾燥や低温乾燥処理により粉末状又は濃縮溶液の状態で、アイスクリーム、ヨーグルト、液体ドリンク、ジャム、バター、チーズ、クリーム、氷菓、マヨネーズ、ドレッシング、その他の食品、飲料類に添加使用することができる。上記
10 各素材の原料に、抗炎症因子含有免疫性物質の溶液や粉末を適当量添加し、それぞれの飲食品の定法に従って仕上げるのである。該抗炎症因子含有免疫性物質は、それぞれの素材に従って異なるが、概ね、固体分として 1～20 重量% 程度であるが、これに限定されるものではない。この程度の量を添加することにより、抗炎症効果、
15 免疫強化効果が現れる。上記の各素材は、特に高い熱を加える処理がないので、殺菌、滅菌した水溶液を効果的に使用することができる。

また、抗炎症因子含有免疫性物質水溶液をポアサイズ 0.1～
20 0.22 μm のフィルターで濾過することにより殺菌、滅菌するこ
とができる。細菌はこの目開きのフィルターを通過しないので、該
フィルターで処理することにより殺菌、滅菌することができる。こ
こで使用するフィルターは、セルロース混合膜などからできている。
ろ過操作は、抗炎症因子含有免疫性物質の濃度 20% 以下の水溶液
を、該物質が変成しない温度、例えば、40℃ 以下の温度で加圧下
25 に行う。

このように殺菌、滅菌した、抗炎症因子含有免疫性物質の水溶液

は、前記の加熱殺菌、滅菌によって得た殺菌、滅菌抗炎症因子含有免疫性物質の水溶液と同様にして、アイスクリーム、ヨーグルト、液体ドリンク、ジャム、バター、チーズ、クリーム、氷菓、マヨネーズ又はドレッシングに使用することができる。

5 以上、抗炎症因子含有免疫性物質の加熱又はフィルターによる殺菌、滅菌方法は、いずれも水溶液として処理している。処理するに際しては、溶液にする必要があるが、必ずしも水溶液にする必要はない。抗炎症因子含有免疫性物質の活性が損なわれない範囲に於いて、水以外の溶剤、例えば、エチルアルコール、エチルアルコールの水溶液を使用することができる。

加熱又はフィルターにより殺菌、滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質の溶液は、そのままの状態で飲食品に添加使用してもよいし、凍結乾燥又は低温乾燥により濃縮した状態又は粉末の状態で添加使用できることは既に述べた。

15 殺菌、滅菌した、抗炎症因子含有免疫性物質の利用について、以下、実施形態に基づいて説明する。まず、アイスクリームについて説明する。牛乳、クリーム、卵、調味料等の原料にフィルターにより滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質を10重量%添加し、これらをホモジナイザーでよく混合し、混合したものを68℃で30分間加熱処理し滅菌する。滅菌した混合物を2～5℃に冷却後、-15℃でオーバーランし空気を抱き込ませて、アイスクリームを得た。このアイスクリームは、抗炎症効果と免疫強化効果を持つ健康食品である。また、ろ過又は加熱処理により滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質は、アイスクリーム原料混合物を滅菌処理後に添加してもよい。

マヨネーズは、68℃で30分間熱処理して滅菌した抗炎症因子

含有免疫性物質（15重量%）、サラダ油、香辛料・調味料、殺菌した卵黄を混合、乳化させることにより得ることができる。同様に、健康食品として供しうるものである。ろ過により滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質も使用できることはいうまでもない。

5 力力オ豆の微粉碎物に、68℃で30分間熱処理又は0.22μmポアサイズのフィルターでろ過して滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質（12重量%）、乳化剤、香辛料等を混合し、65℃の温度でテンパリングし、所定の型にモールディングしてチョコレートを得た。該チョコレートも同様に、健康食品として供しうるものである。

10 いちごと0.22μmポアサイズのフィルターでろ過して滅菌した抗炎症因子含有免疫性物質（12重量%）とを混合し68℃に加熱した。該温度で真空濃縮した後、ペクチンを添加し、68℃で30分加熱処理して滅菌した。抗炎症因子含有免疫性物質（12重量%）は、ペクチンと同時にいちごに添加してもよい。このようにして、抗炎症因子含有免疫性物質（12重量%）を含むいちごジャムを得た。また、いちごに変えて、種々の果物類を使用し得ることはいうまでもない。

15 液体ドリンク剤に抗炎症因子含有免疫性物質（18重量%）を添加し、ポアサイズ0.22μmのフィルターでろ過することにより、抗炎症因子含有免疫性物質を含有する液体ドリンク剤を得た。また、ろ過に変えて、抗炎症因子含有免疫性物質添加後、68℃の温度で30分間加熱処理してもよい。

20 ヨーグルトに適用した場合について以下説明する。ヨーグルトにはプレーンヨーグルト、ハードヨーグルト、ソフトヨーグルト、ドリンクヨーグルト及びフローズンヨーグルト等の種類があるが、基

本的なものはプレーンヨーグルトであるので、プレーンヨーグルトについて説明する。

抗炎症因子含有免疫性物質を65℃で30分処理して滅菌し、45～48℃に冷却したものを用意する。一方、乳に必要に応じて5 添加物を加え加温、混合し、均一化した後90～95℃の温度で殺菌処理をする。殺菌処理後乳を45～48℃に冷却し、45～48℃に冷却した抗炎症因子含有免疫性物質を乳に添加し混合し、スター10 ターを加え混合する。混合したものを、醸酵容器に充填し醸酵させる。室温に冷却して製品とする。この過程で、乳に安定剤の水溶液及び香料を添加するとハードヨーグルトになる。また、ハードヨーグルトに於いて、醸酵後カード破碎し5～20℃に冷却後フルーツソースを加え混合して製品とするものがソフトヨーグルトである。

次に、本発明の抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌、滅菌方法の効果について、実施例に基づいて説明する。

15 実施例 1

抗炎症作用のある物質を経口投与し、マウス皮下にエアポーチ(空気の空洞)を作成し、カラギーナン(炎症源)を注入し、遊走されてくる白血球数を測定した。この試験に使用したサンプルは次の4種である。

20 (1) 市販ミルク：森永乳業株式会社製のスキムミルクを、精製水で60重量%の濃度に溶解したもの。

(2) S-100ミルク：26種類の病原微生物の死菌で免疫(ワクチナライズ)された牛のミルクから調製した脱脂粉乳を精製水で60重量%の濃度に溶解したもの。

25 (3) WPI+溶液：S-100ミルクより分離されたホエーツンパク画分に同じくS-100ミルクより限外濾過分離されたMUF

と呼ばれる低分子の抗炎症画分を約8:2の割合で混合したものを、精製水で0.16重量%の濃度に溶解したもの。

(4) MDF溶液：S-100ミルクよりイオン交換カラム分離された抗炎症画分を精製水で0.1重量%の濃度に溶解したもの。

5 また、操作は次の通りである。

(1) 9週齢のマウス(C3Hなど)を用いた。

(2) 試験3週間前より、コントロール溶液(生理食塩水)、市販ミルク溶液(投与量は、個体として300mg、S-100ミルク溶液(投与量は、個体として300mg)、WPI+溶液(投与量は個体として5~30mg)、MDF溶液(投与量は、固体として5mg)を毎日0.5ml経口投与した。

(3) 試験6日前、フィルターエアー2.5mlを背中に皮下注射し、エアポーチを作成した。

(4) 試験3日前、フィルターエアー2.5mlを(2)と同じ場所に皮下注射し、エアポーチを固定した。

(5) 試験1時間前、最後の経口投与した。

(6) カラギーナン1mg(1W/V%溶液を0.1ml)をエアポーチ内に注射器で注入した。

(7) 4時間後、エアポーチ内をPBS(磷酸緩衝生理食塩水)2mlで3回、注射器を用いて、細胞を洗い出した。

(8) 洗い出した細胞含有液を遠心分離器で遠心沈殿させた。

(9) 細胞含有液が全量1mlになるまで、上清を捨て、よく混合した。

(10) 細胞含有液をチュルク染色する。サンプルとチュルクを1:9の割合で混合する。すると、赤血球が溶血後、白血球の核が染色された。

(11) チュルク板(血球計数板)を用いて、白血球数を計測する。

(4マス数えて平均し、 10^4 を掛ける)。測定結果、即ち、エアポーチに浸潤した細胞数を、第1表に示した。

コントロールと市販ミルクはほぼ同程度の白血球浸潤数を示した。

一方、S-100ミルク、WPI+溶液及びMUFは、白血球浸潤数がコントロールに比較し少なく、抗炎症効果があることがわかる。また、WPI+に関して、使用量が多くなるに従い、白血球浸潤数が少なくなっている、抗炎症効果がWPI+の量に応じて変化することが分かる。ここで、WPI+というのは、本発明のいう抗炎症因子含有免疫性物質のことである。

実施例 2

抗炎症因子含有免疫性物質2gを採り、水に溶解し全容量が20mlになるように調製した。この液を更にSMUF(PH6.6の緩衝液)で希釈し、0.02%溶液とした。該溶液1mlを遠心チューブに分注し、75℃で30分、70℃で30分、65℃で30分、55℃で30分及び非加熱の条件で処理した。処理後、各サンプルを10000Gで10分間遠心した後、それぞれのチューブから上澄み液0.5mlを採取した。各サンプルの上澄み液250μlに等量のSMUFを混合し0.01%の検体液を調製した。この検体液をマイクロプレートリーダーで光学密度を測定し、別途作成した検量線と対比して、抗炎症因子の活性残存率を求めた。この結果を、第2表に示した。活性残存率は、室温に於ける活性値を100として示した相対値(%)である。

第2表から分かるように、温度70℃を越えると、免疫強化因子の活性残存率が急激に低下し、処理温度70℃がクリティカルポイントになっている。免疫強化因子活性残存率は、処理68℃までは

80%以上を保持しているが、処理温度が70℃ではほぼ半減し、処理温度が75℃になると活性はほとんど残存していない。

実施例3

次に、殺菌、滅菌効果について調べた。抗炎症因子含有免疫性物質2gを採り、水に溶解し全容量が20mlになるように調製した。この溶液に別培地で培養した大腸菌1コロニーを加え混合した。この検体液から一部を採り、55℃、60℃、65℃の各温度で30分間加熱した。残りの液体は氷温に冷却した。加熱した検体液0.1ml、氷冷検体液0.1mlをとり、それぞれ滅菌したPBSで10mlに希釈して植菌用サンプルとした。

普通寒天培地とマッコンキー寒天培地のそれぞれを、精製水と混合し加熱溶解し滅菌した。この培地を、滅菌されたプラスティックシャーレに流し込み、固めてそれぞれ平板培地を調製した。次に、クリーンベンチ内に滅菌した各器具を搬入し、その無菌的な状況下で植菌を行った。上記した各寒天培地上に各植菌用サンプル液100μlを載せ、ガラス棒で均一に塗付した。この培地を37℃のインキュベーターに入れ24時間インキュベーションした。24時間経過後、発生したコロニーの数を調べた。この結果を第3表に示した。

普通寒天培地における非加熱サンプルでのコロニー数は93個であったのに対して、65℃以上の加熱サンプルではコロニーの発生は認められなかった。60℃加熱のサンプルでのコロニー数は4、同じく55℃では3であった。この結果から、55℃以上の加熱により殺菌できること、更に、65℃以上の加熱によりコロニー数はゼロ、即ち、滅菌できることがわかる。

以上、実施例2と実施例3との結果から、抗炎症因子の活性保持

と殺菌、滅菌を両立する温度領域が 55～70℃の範囲にあることが分かる。従って、抗炎症因子の活性を損なうことなく殺菌、滅菌するには、55℃～70℃の温度範囲で処理するのがよい。

実施例 4

5 実施例 4 では、フィルターを用いて殺菌、滅菌する方法について説明する。フィルターとして、富士写真フィルム（株）製品、品番 FM-22（これは、直径が 47 mm でポアサイズが 0.22 μm である）を使用し、ろ過ユニットとしては、柴田機械科学工業株式会社のものを使用した。抗炎症因子含有免疫性物質 2 g を採り、水に溶解し全容量が 20 ml になるように調製した。この溶液を 10000 G で 10 分間遠心し、遠心上澄みを集めめた。このサンプル液を、フィルターを設置して滅菌したろ過ユニットでろ過処理を行った。ろ液は、滅菌 PBS（磷酸緩衝生理食塩水）を用いて希釈し、0.8% 及び 1.2% 検体液を調製した。

15 The Binding Site 社製の RID（一元免疫拡散法）キットで、コントロールとしてキット中の羊アルブミン入り PBS 液を使用し、抗炎症因子の活性を調べた。ウェルに各検体液を分注し室温で 72 時間インキュベーションをした。ノギスを用いて沈降円の直径を測定した。このデーターから計量線の式を求め、該式を用いてデーター処理を行い、各検体液中の抗炎症因子の量を算出した。この結果を、第 4 表に示した。

20 測定した抗炎症因子の活性については、第 4 表にそれぞれの検出濃度、活性量、未処理サンプルを 100% とした時の活性残存率、及び活性残存率の平均値を示した。各検体ともろ過処理、未処理に関らずほとんど同じ数値を示した。処理した検体の値が 1% ほど高めに出ていているが、このキット自体が保証している再現性の範囲内に

あり問題はないと判断される。ろ過処理による抗炎症因子の活性は、ろ過操作によっては変化を受けないことが認められた。

実施例 5

菌数について、実施例 3 と同様にして測定した。即ち、抗炎症因子含有免疫性物質 2 g を採り、水に溶解し全容量が 20 ml になるように調製した。この溶液に別培地で培養した大腸菌 1 コロニーを加え混合した。このサンプル液の 10 ml をフィルターを設置して滅菌したろ過ユニットを用いて、ろ過処理を行った。ろ過処理したサンプル液 0.1 ml、未処理サンプル液 0.1 ml をそれぞれ滅菌 P B S で 10 ml に希釀して検体とした。

クリーンベンチ内に滅菌した各器具を搬入し、その無菌的な状況下で植菌を行った。調製した各寒天培地に、調製したそれぞれの検体液 100 μ l を載せ、ガラス棒で均一に塗付した。この培地を 37 °C インキュベーターに入れ 24 時間インキュベーションした。24 時間経過後、発生したコロニーの数を調べた。発生コロニー数の測定の結果を第 5 表に示した。

普通寒天培地におけるろ過未処理サンプルでのコロニー数は 708 個であったのに対して、ろ過処理サンプルでのコロニーの発生は認められなかった。マッコンキー寒天培地においても、ろ過未処理サンプルでのコロニー数は 394 個であったのに対して、ろ過処理サンプルでのコロニーの発生は認められなかった。植菌には、一般生菌用の普通寒天培地と大腸菌群選択培地であるマッコンキー寒天培地の 2 種の培地を用いたが、どちらの培地もろ過未処理検体液を植えた培地には大量のコロニーが発生したが、ろ過処理した検体液を植えた培地には、菌コロニーの発生しなかった。以上からろ過処理により殺菌、滅菌ができたことがわかる。

以上により、抗炎症因子含有免疫性物質の溶液をろ過処理を行うことにより、抗炎症因子含有免疫性物質の特性を損なうことなく、殺菌、滅菌、除菌、処理が可能であることがわかる。

5 産業上の利用可能性

抗炎症因子含有免疫性物質の溶液を55～70℃の温度範囲で加熱処理、又は、ポアサイズ0.1～0.22μmのフィルターでろ過処理することにより、該物質の効果を損なうことなく、殺菌、滅菌、除菌することができる。そして、これらの処理で得た殺菌、滅菌抗炎症因子含有免疫性物質を各種飲食品に添加使用することができ、健康食品として有用なものになる。

第1表

エアポーチに浸潤した細胞数（×10000個）

サンプル	1	2	3	4	5	6	7	8	9	平均値	標準偏差	有意差
コントロール	287	355	303	280	338	361	375	313	351	329.2	29.75	—
市販ミルク	262	350	333	310	296	329	301	312	203	299.6	30.59	なし
S-100 300mg	48	55	62	81	68	88	60	76	59	66.3	10.59	P<0.005
WPI+ 300mg	32	31	26	27	21	30	41	48	31	31.9	5.63	P<0.005
WPI+ 20mg	133	109	100	90	128	113	89	121	154	115.2	16.69	P<0.005
WPI+ 10mg	226	248	291	299	268	271	265	254	278	266.7	16.37	P<0.005
WPI+ 5mg	312	256	263	321	291	301	284	300	268	288.4	18.40	P<0.05
MDF 5mg	16	21	43	18	22	15	30	32	25	24.7	6.96	P<0.005

第2表

処理温度が免疫強化因子活性残存率に与える影響

処理温度 (°C)	光学密度	活性値 (ng/ml)	平均 (ng/ml)	活性残存率 (%)
75	0.076	0.22	0.11	0.3
	0.064	0		
70	0.269	49.7	49.95	59.3
	0.271	50.21		
68	0.350	70.46	69.82	82.9
	0.345	69.18		
65	0.366	74.56	74.69	88.7
	0.367	74.82		
55	0.403	84.02	81.86	97.3
	0.386	79.69		
室温	0.399	83.02	84.17	100.0
	0.408	85.33		

第3表

処理温度が菌体コロニー数に与える影響

サンプル	コロニー数
非加熱	93
65℃加熱	0
60℃加熱	4
55℃加熱	3

第4表

過処理が抗炎症因子の活性残存率に与える影響

サンプル		検出濃度 (mg/l)	活性量(mg/g)	活性残存率(平均) (%)	
未処理	0.8%	288.3	36.0	100.0	100.0
	1.2%	410.7	34.2	100.0	
処理	0.8%	293.0	36.6	101.6	101.5
	1.2%	416.2	34.7	101.3	

第5表

ろ過処理が菌体コロニー数に与える影響

サンプル	普通寒天培地	マッコンキー-寒天培地
未処理	708	394
フィルター処理	0	0

請 求 の 範 囲

1. 抗炎症因子含有免疫性物質の溶液を 55℃～70℃の温度で 30～60 分間熱処理することを特徴とする抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌方法。

5

2. 抗炎症因子含有免疫性物質の溶液をポアサイズ 0.1～0.22 μm のフィルターで濾過することを特徴とする抗炎症因子含有免疫性物質の殺菌方法。

10

3. 請求の範囲 1 又は 2 の方法で殺菌した抗炎症因子含有免疫性物質を含有する物質。

15

4. 請求の範囲 1 又は 2 の方法で殺菌した抗炎症因子含有免疫性物質を添加した、アイスクリーム、ヨーグルト、液体ドリンク、ジャム、バター、チーズ、クリーム、氷菓、マヨネーズ、ドレッシング、その他の食品、飲料類。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05642**C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim N .
	Par. No. [0025] (Family: none)	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/05642

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: 1-4
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

Although the term "immune substances containing antiinflammatory factors" is used in these claims, the particular scope of these substances cannot be specified except those described in page 2, lines 7 to 17 in the description, even though the common general technical knowledge at the time of the application is taken into consideration. Therefore, no meaningful international search can be practiced.
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Pr test The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 N protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C17 A61K35/20, A61P29/00, A23L1/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C17 A61K35/20, A61K39/395, A23L1/30

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1992年
日本国公開実用新案公報	1971-1992年
日本国登録実用新案公報	1994-1996年
日本国実用新案登録公報	1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	US, 5352462, A (Stolle Research and Development Corp.) 4. 1月. 1994 (04. 01. 94) whole document & JP, 2-503802, A & CA, 1339724, A & P, 336694, A2 & WO, 91/6321, A1	1-4
Y	EP, 593440, A1 (Stolle Research and Development Corp.) 27. 4月. 1994 (27. 04. 94) whole document & WO, 92/4035, A1 & JP, 8-502718, A & US, 6054124, A	1-4

 C欄の続きを参照する。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

02. 11. 00

国際調査報告の発送日

14.11.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子

印

4C 9051

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 4-352729, A2(Stolle Research and Development Corp.)7.12月. 1992(07.12.92)【0024】例1 & DE, 3504221, A1 & CA, 1276883, A2 & US, 5215746, A & WO, 94/27623, A1 & EP, 707485, A1	1-4
Y	JP, 4-283519, A(エーザイ株式会社)8.10月. 1992(08.10.92)【0025】(ファミリーなし)	1-4

U.S.

PCT

特許協力条約

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 ORTH-001-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/05642	国際出願日 (日.月.年) 23.08.00	優先日 (日.月.年) 24.08.99
出願人(氏名又は名称) 株式会社オノレトコーカボレーション		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 4 ページである。

この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎
 - a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
 この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。
 - b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
 この国際出願に含まれる書面による配列表
 この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。
2. 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。
3. 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。
4. 発明の名称は 出願人が提出したものを承認する。
 次に示すように国際調査機関が作成した。
5. 要約は 出願人が提出したものを承認する。
 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1ヶ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。
6. 要約書とともに公表される図は、
第_____図とする。 出願人が示したとおりである. なし
 - 出願人は図を示さなかった。
 - 本図は発明の特徴を一層よく表している。

請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、
2. 請求の範囲 1-4 は、有意義な国際調査をできる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
これらの請求の範囲には「抗炎症因子含有免疫性物質」なる用語が記載されているが、それらの物質については、出願時の技術常識を勘案しても、明細書の第2ページ第7行目～第17行目に記載されているもの以外については、その示す具体的なものの範囲を特定することができないため、有意義な国際調査を行うことができない。
3. 請求の範囲 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第II欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかつた。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかつたので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかつたので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあつた。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかつた。

発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int. Cl: A61K35/20, A61P29/00, A23L1/30

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

Int. Cl: A61K35/20, A61K39/395, A23L1/30

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1926-1992年
日本国公開実用新案公報	1971-1992年
日本国登録実用新案公報	1994-1996年
日本国実用新案登録公報	1996-1999年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	US, 5352462, A (Stolle Research and Development Corp.) 4:1月. 1994 (04. 01. 94) whole document & JP, 2-503802, A & CA, 1339724, A & E P, 336694, A2 & WO, 91/6321, A1	1-4
Y	EP, 593440, A1 (Stolle Research and Development Corp.) 27. 4月. 1994 (27. 04. 94) whole document & WO, 92/4035, A1 & JP, 8-502718, A & US, 6054124, A ↓ WO, 91/6321, A1	1-4

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 02. 11. 00	国際調査報告の発送日 14.11.00
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 田村 聖子 印 4 C 9051 電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP, 4-352729, A2 (Stolle Research and Development Corp.) 7. 12月. 1992 (07. 12. 92) 【0024】 例1 & DE, 3504221, A1 & CA, 1276883, A2 & US, 5215746, A & WO, 94/27623, A1 & EP, 707485, A1	1-4
Y	JP, 4-283519, A (エーザイ株式会社) 8. 10月. 1992 (08. 10. 92) 【0025】 (ファミリーなし)	1-4

REC'D 01 JUN 2001

WIPO

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

15T

出願人又は代理人 の書類記号 ORTH-001-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JPOO/05642	国際出願日 (日.月.年) 23.08.00	優先日 (日.月.年) 24.08.99
国際特許分類 (IPC) Int. C17 A61K35/20, A61P29/00, A23L1/30		
出願人（氏名又は名称） 株式会社オハレトヨーポレーション		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条（PCT36条）の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>4</u> ページからなる。 <input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対して訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で <u> </u> ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input checked="" type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 16.02.01	国際予備審査報告を作成した日 17.05.01
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 田村 聖子 印 電話番号 03-3581-1101 内線 3452
	4C 9051

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。（法第6条（PCT14条）の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。PCT規則70.16, 70.17）

 出願時の国際出願書類

明細書 第 _____ ページ、
明細書 第 _____ ページ、
明細書 第 _____ ページ、
出願時に提出されたもの
国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
付の書簡と共に提出されたもの

請求の範囲 第 _____ 項、
請求の範囲 第 _____ 項、
請求の範囲 第 _____ 項、
請求の範囲 第 _____ 項、
出願時に提出されたもの
PCT19条の規定に基づき補正されたもの
国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
付の書簡と共に提出されたもの

図面 第 _____ ページ/図、
図面 第 _____ ページ/図、
図面 第 _____ ページ/図、
出願時に提出されたもの
国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
付の書簡と共に提出されたもの

明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、
出願時に提出されたもの
国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
 PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、スクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

この国際出願に含まれる書面による配列表
 この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に、この国際予備審査（または調査）機関に提出された書面による配列表
 出願後に、この国際予備審査（または調査）機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

明細書 第 _____ ページ
 請求の範囲 第 _____ 項
 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。（PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。）

III. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

1. 次に關して、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

国際出願全体

請求の範囲 1 - 4

理由：

この国際出願又は請求の範囲 _____ は、国際予備審査をすることを要しない次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 1 - 4 の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

これらの請求項には「抗炎症因子含有免疫性物質」なる用語が記載されているが、「抗炎症因子」及び「免疫性物質」なる用語は、一般的な技術用語とは認められないから、それらの用語が表す具体的な物質について、本願出願時、当業者に共通に把握されていたものとは認められない。

したがって、これらの請求項の記載された用語の意味のみから判断すると、「抗炎症因子含有免疫物質」なる用語に含まれうる物質として、抗炎症作用を有する因子を含む免疫に関連する物質などがあげられるが、それらが具体的にどのようなものであるのかは、上記のとおり、本願出願時に当業者に把握できた物とは認められないから、この請求項に記載された発明の範囲が不明確である。

よって、これらの請求項に記載の「抗炎症因子含有免疫物質」としては、本願明細書の第2頁第7行～第17行に記載のものについてのみ国際調査及び国際予備審査を行った。

全部の請求の範囲又は請求の範囲 _____ が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

請求の範囲 1 - 4 について、国際調査報告が作成されていない。

2. スクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

書面による配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条 (PCT35条(2)) に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N) 請求の範囲 1 - 4 有
 請求の範囲 _____ 無

進歩性 (I S) 請求の範囲 1 有
 請求の範囲 2 - 4 無

産業上の利用可能性 (I A) 請求の範囲 1 - 4 有
 請求の範囲 _____ 無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1 US, 5352462, A (Stolle Research and Development Corp.) 4. 1月. 1994 (04. 01. 94) whole document & JP, 2-503802, A & CA, 1339724, A & EP, 336694, A2 & WO, 91/632 1, A1

文献2 EP, 593440, A1 (Stolle Research and Development Corp.) 27. 4月. 1994 (27. 0 4. 94) whole document & WO, 92/4035, A1 & JP, 8-502718, A & US, 6054124, A

文献3 JP, 4-352729, A2 (Stolle Research and Development Corp.) 7. 12月. 1992 (07. 12. 92) 【0024】例1 & DE, 3504221, A1 & CA, 1276883, A2 & US, 5215746, A & WO, 9 4/27623, A1 & EP, 707485, A1

説明

請求の範囲 2 ~ 4 について

文献3に記載されているとおり、牛乳由来のタンパク質等含有成分において、タンパク質等の有効成分の失活を防ぎつつ、牛乳の殺菌を行うために、フィルターによる濾過処理を行うことは当業者に周知の事項である。そして、フィルター濾過処理においては、そのポアサイズ（孔径）を変更することにより殺菌程度及び濾過されるタンパク質量が異なることは当業者に周知のことであるから、文献1又は文献2に記載の抗炎症因子物質の殺菌のために、適宜、好適な孔径のフィルターで濾過処理することは、当業者が通常に行うことと認める。

そして、本願明細書の発明の詳細な説明を見ても、特にフィルターの孔径として0.1 ~ 0.22 μmのものを選択したことによって、他の孔径を有するフィルターで処理を行った場合と比較して、格別優れた効果が奏されているものとも認められない。

したがって、本願の請求の範囲 2 ~ 4 は、進歩性を有さない。

請求の範囲 1 について

本願明細書の第17頁の「処理温度が免疫強化因子活性残存率に与える影響」にかかる表を参照すると、この請求の範囲に記載の加熱温度を選んで熱処理をすることにより、本願明細書の第2頁第7行～第17行に記載の抗炎症因子含有免疫物質において、その活性の失活を防ぎながら適切な殺菌を行うという効果が奏されるものと認められるから、この請求の範囲に記載の発明は、国際調査報告にあげられたいずれの文献にも記載されておらず、また、これらの文献から自明なものでもない。

127
Translation

PATENT COOPERATION TREATY
PCT
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT
(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference ORTH-001-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/05642	International filing date (day/month/year) 23 August 2000 (23.08.00)	Priority date (day/month/year) 24 August 1999 (24.08.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 35/20, A61P 29/00, A23L 1/30		
Applicant ORTHO CORPORATION CO., LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.
<input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items: I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 16 February 2001 (16.02.01)	Date of completion of this report 17 May 2001 (17.05.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/05642

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

 the international application as originally filed the description:pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____ the claims:pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19)
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____ the drawings:pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____ the sequence listing part of the description:pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages _____ the claims, Nos. _____ the drawings, sheets/fig _____5. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

the entire international application.

claims Nos. 1-4

because:

the said international application, or the said claims Nos. _____ relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 1-4 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

See supplemental sheet for continuation of Box III. 1.

the claims, or said claims Nos. _____ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

no international search report has been established for said claims Nos. 1-4

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

the written form has not been furnished or does not comply with the standard.

the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP 00/05642

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III. 1.

Claims 1-4 use the term "immune substance including an antiinflammatory factor". However the terms "anti-inflammatory factor" and "immune substance" are not common technical terms, and thus at the time of filing the present application a person skilled in the art would have been incapable of understanding exactly what substances are implied by these terms.

Judging merely from the sense of the terms used in these claims, "immune substances including an antiinflammatory factor" would be substances which are associated with immunity and include a factor which has an antiinflammatory effect; however, as mentioned above, at the time of filing the present application a person skilled in the art would have been incapable of understanding exactly what type of substances these might be. Therefore, the inventions described by these claims are unclear.

Consequently, the international search and international preliminary examination relating to "immune substances including an antiinflammatory factor" as mentioned in these claims have been restricted to the substance described as such in the description, page 2, lines 7-17.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

JP 00/05642

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1	YES
	Claims	2-4	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-4	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Document 1: US, 5352462, A (Stolle Research and Development Corp.), 4 January 1994 (04.01.94); whole document & JP, 503802, A & CA, 1339724, A & EP, 336694, A2 & WO, 91/6321, A1

Document 2: EP, 593440, A1 (Stolle Research and Development Corp.), 27 April 1994 (27.04.94); whole document & WO, 92/4035, A1 & JP, 8-502718, A & US, 6054124, A

Document 3: JP, 4-352729, A2 (Stolle Research and Development Corp.), 7 December 1992 (07.12.92); paragraph [0024] Example 1 & DE, 3504221, A1 & CA, 1276883, A2 and US, 5215746, A & WO, 94/27623, A1 & EP, 707485, A1

Explanation

Claims 2-4

As disclosed in Document 3, filtration treatment using a filter for pasteurizing cows' milk in order to prevent loss of activity of active ingredients such as the milk protein among ingredients containing cows' milk protein is commonly known within the art. It is also known within the art that the degree of pasteurization and the

weight of protein in the filtrate are altered by modifying the pore size of the filter used for filtration treatment. Therefore, filter treatment using a filter with a suitable or ideal pore size in order to pasteurize an anti-inflammatory factor disclosed in Document 1 or Document 2 is routine practice within the art.

Moreover, the detailed explanation of the invention within the description of the present application does not appear to offer any special advantageous effect by specifically selecting a filter of pore size 0.1-0.22 μm as compared with carrying out treatment using a filter of a different pore size.

Therefore, Claims 2-4 of the present application do not involve an inventive step.

Claim 1

Reference to the table entitled "Effect of treatment temperature on the residual activity of immunopotentiating factors" on page 17 of the description of the present application indicates that heat treatment selecting a heating temperature described in this claim offers the advantageous effect of suitable pasteurization while avoiding loss of activity in an immune substance including an antiinflammatory factor described in the description, page 2, lines 7-17. Hence, the invention described in this claim is not disclosed in any of the documents cited in the international search report, and is not obvious from these documents.